

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. SUD-OUEST

Année 1978 - N° 56

**TENTATIVE DE REPRODUCTION
DU SYNDROME DE REYE CHEZ LE RAT
PAR L'ACIDE 4 PENTENOÏQUE.
OBTENTION D'UNE STEATOSE HEPATIQUE.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 24 Février 1978
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Pierre SEGUIN

né le 20 Décembre 1951

à SAINTE-COLOMBE-LES-VIENNE (Rhône)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554220_0018

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. SUD-OUEST

Année 1978 - N° 56

**TENTATIVE DE REPRODUCTION
DU SYNDROME DE REYE CHEZ LE RAT
PAR L'ACIDE 4 PENTENOÏQUE.
OBTENTION D'UNE STEATOSE HEPATIQUE.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 24 Février 1978

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Pierre SEGUIN

né le 20 Décembre 1951

à SAINTE-COLOMBE-LES-VIENNE (Rhône)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON

- MEDICINE -

U. E. N. 300-0057

ANNEE 1971 - 1972

OBTENTION D'UNE STEATOSE HEPATIQUE
PAR L'ACIDE 4 PENTENOIQUE.
DU RYTHME DE REVE CHEZ LE RAT
TENTATIVE DE REPRODUCTION



THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 25 février 1972
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Philippe SEGUIN

né le 20 Décembre 1939

à SAINT-ETIENNE-LES-BAIGES (Rhône)

— UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I —

Président de l'Université	M. le Professeur D. GERMAIN
Vice Président	M. le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice Président	M. B. ROUSSET
Troisième Vice Président	M. R. LOPEZ
Secrétaire Général	M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE :

Médecine :	GRANGE BLANCHE	M. le Docteur B. SALLE (MCA)
	ALEXIS CARREL	M. le Professeur R. MORNEX
	SUD-OUEST	M. le Professeur J. NORMAND
	LYON NORD	Directeur : M. le Docteur J.P. NEIDHARDT
		Directeur honoraire : M. le Professeur A. BERTOYE
Biologie Humaine		M. le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)
Techniques de Réadaptation		M. le Docteur A. MORGON (MCA)
Sciences Pharmaceutiques		M. le Professeur BIZOLLON
Sciences Odontologiques		M. le Docteur R. VINCENT
Institut régional d'éducation physique et sportive ..		Président du conseil d'UER : M. le Professeur
		R. GUILLET,
		Directeur M. A. MILLON
Mathématiques		M. le Professeur E. COMBET
Physique		M. le Professeur J. DELMAU
Chimie et Biochimie		M. le Professeur J. HUET
Sciences de la Nature		M. le Professeur R. GINET
Sciences Physiologiques		Mlle le Professeur J.F. WORBE
Institut Universitaire et Technologie n°1		M. le Professeur B. POUYET
Institut Universitaire et Technologie n°2		M. J. GALLET (Directeur ENSAM)
Observatoire		M. M. MONNET (Astronome Adjoint)
Physique Nucléaire		M. le Professeur GUSAKOW
Mécanique		Mlle le Professeur G. COMPTE-BELLOT.



Examineurs de la thèse :

Président : Monsieur le Professeur TOMMASI

Assesseurs : Monsieur le Professeur BEL
Monsieur le Professeur GILLY
Monsieur le Professeur Agrégé DAVID

A Martine

A Marion

A mes parents

A ma famille

A ma belle-famille

A tous mes amis

A Monsieur le Professeur TOMMASI

Il fut notre premier maître d'internat au cours d'un semestre où nous découvrîmes l'anatomie pathologique. Ses qualités humaines, son esprit, l'étendue et la clarté de ses connaissances, l'intérêt qu'il porte à ses élèves nous ont marqué. Il a inspiré ce travail et nous a donné tous les moyens de le réaliser.

Nous espérons ne point le décevoir et nous le remercions de nous faire l'honneur de présider notre thèse.

A Monsieur le Professeur BEL

Il nous a reçu dans son laboratoire parmi un personnel compétent et sympathique. Il nous fit largement profiter de sa grande habitude de l'expérimentation animale : il nous conseilla tant sur le fond théorique de nos recherches que sur des détails de réalisations pratiques.

Nous lui exprimons ici toute notre gratitude pour l'accueil qu'il nous a réservé et nous le remercions de siéger parmi nos juges.

A Monsieur le Professeur GILLY

Nous avons apprécié son enseignement tant magistral qu'hospitalier, sa gentillesse avec les enfants comme avec leurs familles, son grand sens clinique et sa mesure.

Nous sommes honorés de le compter parmi nos juges et nous le remercions de bien vouloir examiner un travail un peu éloigné de la clinique et de la thérapeutique.

A Monsieur le Professeur Agrégé DAVID

Nous le remercions du temps qu'il nous a consacré pour nous conseiller très utilement.

Ses grandes connaissances sur les maladies métaboliques, sa constante amabilité, son dynamisme rendirent nos entretiens agréables et constructifs.

Nous sommes honorés de l'intérêt qu'il a pris à notre travail, en nous aidant pour sa réalisation et en acceptant de le juger.

A nos maîtres dans les Hôpitaux :

Externat :

Professeur DESPIERRES

Professeur Agrégé LEVRAT

Professeur Agrégé MICHEL

Professeur MAYER

Docteur BERTOIN

Professeur PLAUCHU

Professeur GILLY

Suppléance d'internat :

Professeur TOMMASI

Professeur GUILLEMIN

Professeur PEYRIN

Internat :

Docteur ACHARD

.....

Aux très nombreuses personnes qui ont participé à ce travail,
en les remerciant de leur dévouement et de leur patience ;
spécialement :

- Monsieur le Professeur REVOL
- Monsieur le Docteur BARATON
- Mademoiselle BENARROUCH
- Madame CHARRENSOL
- Mademoiselle DELORME
- Madame DURV
- Monsieur FORISSIER
- Monsieur le Docteur KÖPP
- Madame le Docteur LORAS
- Monsieur le Docteur MAMELLE
- Mademoiselle MATHIEU
- Monsieur le Docteur NEMOZ
- Madame SEGUIN, mon épouse

et tout particulièrement Monsieur le Docteur PIALAT

Travail du Laboratoire de Neuro-Pathologie du C.H.U.
de Lyon (Professeur TOMMASI, Faculté Alexis-Carrel)

et du Laboratoire de recherche de Thérapeutique Médicale
(Professeur BEL, Faculté Alexis-Carrel)

Nous nous sommes attachés à l'étude expérimentale du syndrome de Reye pour plusieurs raisons :

- Le nombre croissant de cas décelés ;
- La sévérité du pronostic de cette affection ;
- L'impossibilité pratique de présenter des séries cliniques importantes et homogènes ;
- L'ignorance encore grande au sujet de sa physiopathologie ;
- Le peu de travaux sur ce sujet précis.

Nos hypothèses de travail sont les suivantes :

- 1) Le Ed de Reye et la maladie des vomissements de la Jamaïque sont sinon identiques, du moins très voisins, et peuvent avoir la même physiopathologie.
- 2) La maladie des vomissements de la Jamaïque est causée par un toxique, l'hypoglycine, dont l'analogue structural est l'acide 4 penténoïque (A 4P).

Il est logique de penser que l'A 4P peut reproduire les principales manifestations du Ed de Reye.

Ce travail essaie précisément de juger la valeur de ce modèle expérimental.

PLAN

Pages

Nous exposerons successivement :

- Un rappel sur le Ed de Reye	1
- La description de la maladie des vomissements de la Jamaïque et du toxique responsable	8
- La comparaison entre le Ed de Reye et la maladie des vomissements de la Jamaïque	10
- Les matériels et méthodes de l'expérimentation	12
- Le protocole, les résultats et les conclusions de chaque série expérimentale	
Série I	18
Série II	21
Série III	25
Série IV	28
Série V	32
- La discussion générale et les résultats généraux de l'expéri- mentation	36
- Une comparaison avec les autres travaux sur l'A4P	41
- Une comparaison avec une stéato-nécrose au tétrachlorure de carbone	43
- Une comparaison du modèle proposé et du Ed de Reye	44

Lire : Ed = Syndrome

RAPPEL SUR LE Ed DE REYE

En 1963, REYE, MORGAN et BARAL (53) décrivirent un syndrome d'encéphalopathie et de dégénérescence graisseuse des viscères qu'ils avaient observé chez 21 enfants.

Assez rapidement, d'autres cas furent observés surtout aux Etats-Unis (7-18-20) et en Thaïlande (44-45). En France, cette affection reste rare (9 cas lyonnais entre 1963 et 1975) (6) et les différents articles de langue française ne réunissent que des séries courtes (1-16-21-23-29-35-38-43-46).

Le Ed de Reye frappe les enfants des deux sexes de façon égale, les âges s'échelonnent de 2 mois à 19 ans. Un tiers des cas s'observe avant 1 an, 14 % entre un et 2 ans, 44 % de 2 à 8 ans et seulement 9 % après 8 ans. Les enfants atteints n'ont aucun passé pathologique particulier. Il ne semble pas y avoir de prédisposition génétique.

PHASE PRODROMIQUE

Présente dans 95 % des cas, cette phase consiste 2 fois sur 3 en une infection d'allure virale des voies aériennes supérieures, parfois accompagnée de vomissements, de douleurs abdominales. Dans certains cas, on observe une varicelle, une rougeole, des oreillons. Ces signes prodromiques durent environ 3 à 5 jours et, brutalement, le tableau s'aggrave et c'est alors la phase de début.

PHASE DE DEBUT

Elle associe des signes digestifs et neurologiques. Les vomissements sont très fréquents (81 % des cas), incoercibles, en jet, parfois hémorragiques,

ils entraînent cependant rarement une déshydratation clinique. Les signes neurologiques associés sont variables : convulsions généralisées ou localisées aux membres (35 % des cas), délire, obnubilation ou agitation, enfin, coma marquant le début de la phase d'état.

PHASE D'ETAT

- Le coma, précédé de signes digestifs ou inaugural (19 % des cas) est en général durable et profond. Il est le plus souvent accompagné de crises convulsives de tous types, d'hypertonie, d'hyperréflexivité de signe de Babinski, tous ces signes étant volontiers variables dans le temps.

- On observe très souvent des troubles respiratoires (84 % des cas) sous forme de polypnée ample et profonde devenant peu à peu irrégulière et superficielle avec encombrement bronchique.

- L'examen clinique révèle dans 63 % des cas une Hépatomégalie augmentant de volume au cours de l'évolution. Elle peut manquer dans les formes aiguës. Parfois on note un syndrome hémorragique fait d'ecchymoses, de pétéchies et d'hémorragies digestives.

- Des éruptions cutanées non spécifiques peuvent se voir, comme à la phase de début.

- La température est variable, en général élevée à 39-40°C, elle est parfois absente.

- Les signes négatifs sont important : en effet on ne trouve ni ictère, ni splénomégalie, ni signes méningés.

EXAMENS BIOLOGIQUES

Le Ed de Reye se différencie des autres encéphalopathies essentiellement par l'atteinte biologique hépatique.

A - Examens hépatiques

- Les transaminases sériques glutamo-oxalo acétique (SGOT) et glutamo-pyruvique (SGPT) sont toujours augmentées pouvant aller de 100 à 3500 u.i. (55).

- La lactico-déshydrogénase (LDH), la créatine phosphokinase sont en général augmentées, parfois normales (56).

- L'ammoniémie est constamment augmentée dans les 2 ou 3 premiers jours de la maladie (140 à 1900 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) (36).

- Les facteurs de coagulation d'origine hépatique I, II, V, VII, IX et X sont abaissés alors que le facteur VIII et le nombre de plaquettes restent normaux (61).

- L'hypoglycémie est présente dans 65 % des cas et ce d'autant plus que l'enfant est jeune.

- Phosphatase alcaline et bilirubine sont en général à des taux normaux.

B - Autres examens biologiques

- La numération formule objective souvent une leucocytose à 10.000 - 15.000 GB/mm^3 avec polynucléose à 50-80 %.

- Le ionogramme sanguin peut refléter une déshydratation et on peut trouver de l'acétone et des protéines dans les urines.

- L'étude des acides aminés sanguins montre une élévation de la glutamine, l'alpha-alanine, la lysine et parfois de la méthionine et tyrosine, par contre la citrullinémie est abaissée posant le problème d'un éventuel trouble du cycle de l'urée (64).

- Le cholestérol et les triglycérides sanguins sont souvent diminués.

EXAMENS PARACLINIQUES

- Le fond d'oeil est en général normal, du moins en début.

- L'étude du liquide céphalo-rachidien objective une hypoglycorachie parallèle à l'hypoclycémie et parfois une légère protéinorachie et une discrète lymphocytose.

- L'électro-encéphalogramme reflète la souffrance cérébrale dès le début de l'affection et a une certaine valeur pronostique selon les aspects observés. (3).

En somme, le Ed de Reye apparaît cliniquement comme une encéphalopathie précédée de signes infectieux d'allure virale et de vomissements et accompagnée d'une hépatomégalie avec atteinte biologique des différentes fonctions hépatiques.

EXAMENS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

Servant à la définition même du syndrome, l'examen histologique est possible sur du matériel collecté à l'autopsie, ou lors d'une biopsie hépatique en particulier.

Le foie (8-17-65)

a) Macroscopiquement il est stéatosique : son poids est à 10-15 % au dessus des valeurs normales pour l'âge, ses bords sont mousses, sa surface présente des tâches chamois et sa tranche de section est jaune ou orangée.

b) La microscopie photonique confirme la stéatose, faite de multiples vésicules intra-cytoplasmiques de 3-4 microns de diamètre, présentes dans tous les hépatocytes. Le noyau reste central. On n'observe, dans les cas les plus typiques, ni nécrose, ni inflammation ; l'architecture générale est respectée, il n'y a pas de fibrose. Il existe une raréfaction nette, voire une disparition, du glycogène hépatique.

c) La microscopie électronique (12-48) montre surtout des lésions précoces des mitochondries qui augmentent de volume, se déforment et prennent une allure amiboïde. Par ailleurs on peut observer de nombreuses inclusions cytoplasmiques et une prolifération du réticulum endoplasmique lisse. Il faut noter l'absence de particules virales.

Le cerveau (24-47-69)

Il est le siège d'un gonflement appréciable macroscopiquement, avec des sillons effacés et des circonvolutions aplaties. Son poids est augmenté d'environ 10 à 15 %.

a) L'étude histologique retrouve l'oédème prédominant à la substance blanche profonde et montre une dégénérescence neuronale prédominant sur le cortex hémisphérique et sur le cervelet. Ces atteintes non spécifiques ne sont accompagnées ni d'inflammation, ni d'hémorragie ni de démyélinisation.

b) La microscopie électronique (47) montre un gonflement des astrocytes, une perte de glycogène, la formation de vésicule de myéline et une souffrance diffuse des mitochondries des neurones. L'atteinte mitochondriale correspond à une rupture de la matrice avec un gonflement mitochondrial modéré.

Une dilatation de l'ergastoplasme et des modifications nucléaires ne sont observées que dans les neurones avec atteintes mitochondriales très marquées.

Le rein (37) est atteint dans la moitié des cas. La corticale est jaune pâle et l'examen microscopique révèle des vacuoles lipidiques au pôle basal des cellules tubulaires, surtout au niveau des tubes contournés proximaux.

Le coeur est parfois le siège d'une stéatose qui se retrouve dans tous les tissus cardiaques (14-41).

Les poumons sont souvent le siège d'oédème bilatéral, donnant des aspects de pneumonie interstitielle, parfois associé à des hémorragies interstitielles (13).

Au niveau du tube digestif, on observe fréquemment des érosions muqueuses de l'estomac et du duodénum, des infiltrations graisseuses du péritoine. Quelques cas de pancréatites hémorragiques ont été décrits (42).

Le système lymphatique est parfois oedématié, sans éléments spécifiques.

L'examen anatomo-pathologique révèle donc l'association d'une encéphalopathie non spécifique, de type anoxique et/ou hypoglycémique et d'une importante stéatose prédominant au foie mais pouvant toucher aussi le rein et le coeur.

EVOLUTION ET PRONOSTIC

Le syndrome de Reye est une affection grave, car malgré les traitements de réanimation intensive, son taux de mortalité est de 60-70 %, la mort survenant par dépression de toutes les fonctions cérébrales avec arrêt respiratoire ou collapsus cardio-vasculaire.

Il est par contre heureux de noter que les malades ayant eu une évolution favorable ne connaissent en général pas de séquelles de leur affection, et la stéatose disparaît entièrement. Cependant les très jeunes enfants dont l'atteinte était importante risquent de garder des séquelles neurologiques plus ou moins profondes.

NOTIONS ETIOLOGIQUES

Il n'y a pas actuellement d'étiologies précises à proposer au Ed de Reye, mais plusieurs constatations et suppositions peuvent être faites.

Le Ed de Reye se produirait à la faveur d'une agression virale et/ou toxique sur un terrain peut-être prédisposé.

L'étiologie virale trouve des arguments dans la clinique de la phase prodromique, dans le caractère épidémique et parfois familial du Ed, dans l'isolement de différents virus à partir des tissus des malades (15-27-28-33-49-51-54-57).

L'étiologie toxique est évoquée devant la soudaineté de l'affection et l'aspect des lésions hépatiques. Sont ainsi connus pour donner certains signes du Ed de Reye : les tétracyclines, l'aspirine, l'aflatoxine B₁, la Warfarine (4-40-50-58).

La possibilité d'un terrain prédisposé repose sur la discordance entre le nombre considérable d'enfants présentant des affections virales et le nombre

très restreint de Ed de Reye, et sur l'existence de cas familiaux (25-39-67) posant le problème d'un éventuel déficit enzymatique.

En fait aucune étiologie n'est à ce jour formellement déterminée.

REYE lui-même dans sa publication initiale (53) notait de nombreuses analogies entre le Ed qu'il rapportait et une maladie décrite depuis le début du siècle : la maladie des vomissements de la Jamaïque. Ceci nous amène à étudier cette maladie et son toxique causal, avant de la comparer au Ed de Reye.

LA DESCRIPTION DE LA MALADIE DES VOMISSEMENTS DE LA JAMAÏQUE ET DU TOXIQUE RESPONSABLE

LA MALADIE DES VOMISSEMENTS DE LA JAMAÏQUE (31-32-38-59)

Intéressant les enfants dénutris de 2 à 10 ans, avec une majorité de cas entre 2 et 5 ans, cette maladie débute en général 2 à 3 heures après un repas comprenant des fruits verts de Ackée.

Des douleurs abdominales diffuses sont rapidement suivies de vomissements de survenue brutale ; puis peut apparaître après une période de prostration d'environ 10 heures une hypoglycémie très marquée (jusqu'à 0,03 g/l) (32), un coma avec crises convulsives aboutissant à la mort dans 80 % des cas.

L'examen anatomique montre une stéatose du foie, des reins, du coeur, une déplétion en glycogène hépatique et des pétéchie diffuses sur tous les organes.

Des études épidémiologiques et toxiques mirent en évidence la cause de cette maladie : l'hypoglycine contenue dans les fruits verts de Ackée consommés lors des disettes.

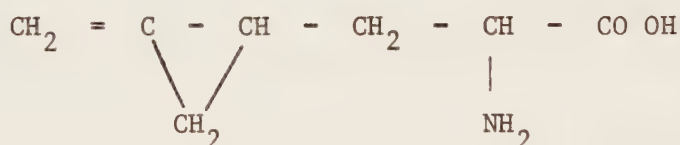
Depuis les années 1955, seuls deux cas nouveaux ont été rapportés (66), peut-être en raison de l'amélioration de la nourriture, ce qui explique le manque de détails précis sur la biologie de cette affection.

LE FRUIT VERT DE ACKEE - L'HYPOLYCYCINE - L'ACIDE 4 PENTENOÏQUE

Appelé "Blighia sapida" en souvenir du capitaine Bligh qui l'introduisit en Jamaïque à bord de son navire la Bounty (dont l'équipage se révolta peu après), le fruit de Ackée est encore nommé arbre à pain (breadfruit tree) car le goût de son fruit rôti ressemble à celui du pain. Cet arbre se trouve en Océanie, aux Antilles, en Amérique centrale et en Floride, mais c'est en Jamaïque que l'on observa ses méfaits, car son fruit y était consommé non mûr et cru et était alors toxique.

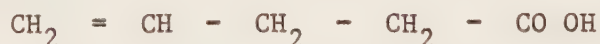
En 1955, MASSAL et REYLE (30) isolèrent deux toxines du fruit vert qu'ils appelèrent hypoglycine A et B. Il fut par la suite montré que l'hypoglycine A bloque la β oxydation des acides gras au niveau mitochondrial (9), entraînant ainsi une stéatose par accumulation d'acides gras et une hypoglycémie par blocage d'une voie de la néoglycogénèse.

Par comparaison des effets biologiques de plusieurs molécules voisines, ANDERSON (2) rattacha l'activité de l'hypoglycine à la présence d'un groupe vinyl ($\text{CH}_2 = \text{CH} -$) séparé d'un groupe carboxylique ($-\text{COOH}$) par deux atomes de carbones.



Hypoglycine

(acide L 2 amino - 3 méthylène cyclo propyl propionique)



Acide 4 Penténoïque

Les effets biologiques de l'hypoglycine et de ses voisins structuraux tels l'acide 4 penténoïque furent étudiés par de nombreuses équipes (2-10-34-52-62-63) pour leurs propriétés hypoglycémiantes mais la survenue de tératogénèse mit pratiquement un terme à ces recherches à visée thérapeutique anti-diabétique par voie orale.

COMPARAISON DU Ed DE REYE ET DE LA MALADIE DES VOMISSEMENTS DE LA JAMAÏQUE

Au terme de l'étude anatomo clinique du Ed de Reye et de la maladie des vomissements de la Jamaïque, il apparaît très clairement que ces deux affections ne sont pas strictement identiques (68).

L'existence d'un toxique connu avec précision comme cause des vomissements de la Jamaïque et la multiplicité d'étiologies soupçonnées par le Ed de Reye en sont la meilleure preuve.

Mais il apparaît clairement aussi que ces deux maladies ont de très nombreux points communs, cliniques, biologiques et histologiques, suggérant une éventuelle physiopathologie commune.

- ELEMENTS CONCORDANTS

Clinique	{	- fièvre	Anatomo patholo- gique	{	- Stéatose hépatique
		- vomissement			- " rénale
		- coma			- " cardiaque
		- convulsion			- Ulcération du trac-
		- hémorragie digestive			tus digestif
		- trouble de la respiration			- Oedème cérébral
		- pronostic			
	{		Biologi- que	{	- Hypoglycémie
					- Chute du glycogène hépatique

ELEMENTS DISCORDANTS

{ étiologie toxique et début brutal pour les vomissements de la Jamaïque
{ étiologie présumée virale et phase prodromique pour le Ed de Reye.

{ Aucun antécédent particulier pour le Ed de Reye
{ Terrain malnutri pour les vomissements de la Jamaïque.

ELEMENTS NON RAPPORTES

Bilan biologique précis pour les vomissements de la Jamaïque.

Ainsi, l'éventualité d'une physiopathologie commune entre syndrome de Reye et vomissements de la Jamaïque et l'existence d'un toxique connu comme responsable de cette dernière maladie peuvent faire envisager une reproduction expérimentale du syndrome de Reye. C'est ce qui est rapporté dans les pages suivantes.

EXPERIMENTATION

MATERIELS ET METHODES

L'expérimentation animale a eu lieu au laboratoire de recherche de thérapeutique digestive (Professeur BEL), à l'hôpital de la Croix-Rousse.

ANIMAUX

Ce sont des rats mâles, de souche OFA, Sprague Dawley, en provenance des établissements IFFA - CREDO (Marcy l'étoile - 69). Leurs poids à la livraison est de $250 \text{ g} \pm 10$, leur âge environ 8 semaines.

Les expérimentations commencent au plus tôt 3 jours après l'arrivée des rats au laboratoire, pour permettre une bonne accoutumance aux lieux. Lors des expérimentations les rats sont groupés par cage (4 à 6 animaux par cage) selon les différents protocoles. Chaque rat est tiré au sort pour subir tel ou tel protocole et est repéré par des marques de couleur sur la queue. Les cages sont munies de planchers grillagés pour éviter la coprophagie.

REGIME

- Tant que l'expérimentation n'est pas commencée le régime est libre : biscuit pour animaux, carotte, pain, restes des cuisines de l'hôpital. Les aliments sont en permanence dans la cage ainsi qu'un biberon d'eau.

- Dès le début des expérimentations, le régime est réduit à l'eau et aux biscuits pour animaux "souriffarat".

L'analyse de ces échantillons donne les valeurs suivantes :

Analyse générale	{	Humidité	10,15	0
		Matière sèche	89,84	"
Analyses spéciales	{	Matières protéiques	2,21	"
		Matières Grasses	1,20	"
		Cellulose	2,95	"
		Matières Minérales	4,17	"
		Phosphore	0,55	"
		Calcium	0,42	"
		Strontium	0,25	"
		Chlorure	0,17	"
		Acidité	1,46	"
		Matière sèche &		

ANALYSE

Pour réaliser l'analyse physico-chimique (à 6 P.), nous avons effectué la plus simple de l'analyse possible. C'est la méthode dite des échantillons et (M&S) (25) et la (M&S) (12), en vue de déterminer la 2^e et la 3^e.

L'analyse est effectuée dans une chambre, nous avons préparé en vue de ces analyses les échantillons dans une solution à pH 7,55 ± 0,10.

Pour cela, nous préparons une solution de :

- 6 g d'eau
- 32 ml d'eau distillée
- 17 ml de solution de 2^e et 3^e

On obtient ainsi 120 ml de solution de 2^e et 3^e dans le volume à pH 7,55 ± 0,10.

Les échantillons sont analysés, il s'agit de trouver l'analyse et les pré-positions sont analysées à l'aide d'une méthode dite chimique et physique de l'air.

L'analyse est effectuée par voie chimico-physique. Les deux échantillons se suivent, aux mêmes heures, les volumes sont de même physico-chimique.

AUTOPSIES - PRELEVEMENTS

Les autopsies sont effectuées à la date prévue par le protocole ou éventuellement avant si un rat montre des signes de défaillance pré-mortem.

RECUEIL DU SANG

Les rats étant préalablement anesthésiés dans une cuvette remplie de vapeur d'éther, on incise la paroi abdominale et on pratique une ponction aortique pour récupérer le sang (5 à 7 cc par animal).

Une partie du sang est envoyée directement à la pharmacie pour les examens courants, l'autre partie est conservée à - 20°C avant envoi aux laboratoires spécialisés.

RECUEIL DES ORGANES

Après la ponction aortique, on procède à la dissection du rat avec examen macroscopique immédiat du foie, des reins, du cerveau, du bloc coeur-poumon. Les organes examinés sont ensuite fixés dans du liquide de Bouin (foie, rein, coeur, poumon) et du formol salé à 10 % (foie, rein, cerveau).

On pratique une ponction de vessie pour la détermination sur Clinistix de la présence d'acétone dans les urines.

- Les foies des animaux sont pesés et nous exprimons ce poids en pourcentage du poids total de l'animal lors de l'autopsie.

- En comparant le poids de l'animal lors de la dernière injection du toxique (P_2) au poids lors du début de l'expérimentation (P_1), on calcule la variation de poids

$$\Delta P = \frac{P_2 - P_1}{P_1} \quad \text{exprimé en pourcentage}$$

- Les études histologiques ont été effectuées en laboratoire d'anatomie pathologique de l'U.E.R. Alexis Carrel (Professeur TOMMASI).

- Les coupes de foies sont soit incluses en paraffine et colorées par l'Hémalum-Phloxine-Safran (H.P.S.) soit coupées en congélation et colorées au rouge Soudan (coloration des graisses) pour le chiffrage de la stéatose.

Pourcentage estimé du :

Nombre de cellules stéatosiques

Nombre total de cellules

- Les coupes de cerveau et de poumon, sont incluses en paraffine et colorées à l'H.P.S. . Ont été étudiées comme indice d'anoxie et/ou hypoglycémie le cortex cérébral, l'hippocampe et le cervelet (60).

LES ETUDES BIOCHIMIQUES ont été effectuées :

* Au laboratoire de biochimie de l'hôpital de la Croix-Rousse (Professeur DORCHE)

- glycémie (g/l) : méthode enzymatique avec kit Godpap Boehringer, sur auto-analyseur à flux continu technicon 1
- bilirubine (mg/l) : méthode colorimétrique à flux continu sur Vitatron
- SGOT et SGPT (m ui/ml) méthode enzymatique avec kit Bio-Mérieux sur appareil LKB 8600 à 37°
- cholestérol : (g/l) méthode enzymatique avec kit Chod-pap Boehringer
- triglycéride : (g/l) méthode enzymatique avec kit Boehringer sur appareil LKB 8600
- lipides totaux : (g/l) fluoro néphélométrie sur auto-analyseur.

* Au laboratoire de biochimie de l'hôpital Debrousse (Professeur COTTE) par Mademoiselle MATHIEU.

- lactacidémie (μ mole/l) : méthode enzymatique d'Olsen

* Au laboratoire de l'INSERM (unité 34) (Professeur J. BERTRAND) de l'hôpital Debrousse par le Docteur B. LORAS.

- corticoïdes plasmatiques (μ g/100 ml) : dosage du cortisol plasmatique par liaison compétitive aux protéines. Méthode de B. LORAS (36 bis).

* Au laboratoire de la fondation Gillet, à l'hôpital St Eugénie : (Professeur REVOL, Docteur BARATON).

- Dosage des fractions lipidiques tissulaires : les organes ont été conservés sous film plastique et stockés à -20°C en attendant les analyses. Les tissus ont été broyés avec un appareil type Polytron, une partie a été réservée à la détermination de la teneur en eau par dessiccation à l'étuve. Les lipides totaux ont été extraits à partir de 1 à 2 g. d'organe frais par un mélange chloroforme-méthanol selon la méthode de Folch. Le cholestérol total a été mesuré selon la méthode de Boroman et Woelf. Le phosphore lipidique total a été déterminé après minéralisation à 190°C , 15 mn en présence d'acide perchlorique à 70 % selon la méthode de Bottcher et coll. Les dérivés neutres du glycérol (mono, di et triglycérides) ont été dosés selon le protocole de Baraton (communication personnelle), une partie de l'extrait lipide contenant de 4 à 12 μg de dérivés neutres du glycérol a été évaporée à sec et repris par 100 μl de sérum physiologique, 100 μl d'éthanol absolu et 2 μl de cutscum (iso-octyl phenoxy poly oxy éthanol) sonifié et agité au Vortex 5 mn. Le glycérol a été dosé après hydrolyse enzymatique à l'aide du kit trigly uv auternat bio-Mérieux sur un appareil LKB.

- Les vérifications des solutions d'A4P ont été effectuées au laboratoire de biophysique de l'U.E.R. Grange Blanche (Professeur J.O. PEYRIN).

Nous rapporterons dans les pages suivantes l'étude de 5 séries d'animaux.

Chaque série comporte :

- le protocole employé, détaillé pour chaque rat
- les résultats biologiques et histologiques pour chaque rat
- la discussion des résultats
- les conclusions pour la série suivante.

Chaque animal est repéré par son numéro de série (chiffre romain) précédé de son numéro dans la série (chiffre arabe).

Les différents sigles et abréviations employés ont la signification suivante :

A = autopsie	+ = décès	Tém = témoins
glyc = glycémie (g/l)		
bil = bilirubine (mg/l)		
SGOT, SGPT (mUi/ml)		
chol = cholestérol (g/l)		
Triglyc = triglycéride (g/l)		
lipides = lipides totaux (g/l)		
lactac. = lactacidémie (μ mole/l)		
corti. = cortisol (μ g/100 ml)		
eau/p frais = rapport poids de l'eau/poids de l'organe frais		
lip. T/p. sec = rapport poids des lipides totaux/poids de l'organe sec		
chol T/p. sec = rapport poids du cholestérol total/poids de l'organe sec		
glycéride/p. sec = rapport poids des glycérides/poids de l'organe sec		
p. lipide/p. sec = rapport poids des phospholipides/poids de l'organe sec		
Ac = Acétonurie, jugée en nombre de croix sur bandelette		
Celimistrix		
Δ poids = variation du poids entre le début de l'expérimentation et l'autopsie (pourcentage)		
p. foie/p. total = rapport poids du foie/poids total de l'animal lors de l'autopsie.		

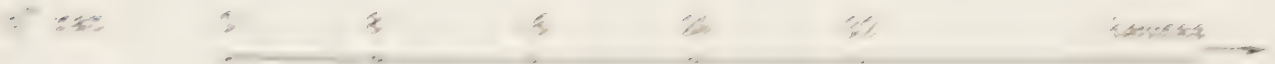
L'appréciation des différents paramètres histologiques (pour le foie : stéatose, inflammation, congestion, nécrose ;

pour le système nerveux : oedème et nécrose dans le cervelet, l'hippocampe, le cortex ;

pour les alvéoles pulmonaires : congestion, emphysème, atélectasie et inflammation) est notée en croix : 0

+ faible
++ moyen
+++ important
++++ massif.

Given:



Part (a)

(1)

2, 4

(2)

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

(3)

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

Part (b)

(1)

2, 4

(2)

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

(3)

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

(4)

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

(5)

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

Answer: The sequence is 2, 4, 0, 0, 0, 0, 0.

Série I

Foie

n° rat	Autopsie à	Glyc	BiI	SGOT	SGPT	Ac.	Δ poids	p. foie/p.T.	Stéat.	Inflam.	Congest.	Nécrose
<u>50 mg</u> 4	30 h	1,78	1,5	68	26	+			0	+	0	+
2	34 h	1,75	2	74	27	++	- 4,6 %	3,66	0	0	0	+
1	34 h	2,06	2	62	19	+++	- 0,2 %	3,32	0	+	+++	0
<u>100 mg</u> 5							- 8,2 %	4,53	0		++	+
7	24 h											
8							- 4,1 %					
6		1,5	2	85	16	++	- 15,3 %	4,26	0	0	+	+
9	24 h	0,28	3	155	13	+++	- 10,3 %	4	40 %	0	0	+

3 - Discussion

Série I

La série I est une série de "prise de contact" avec le produit.

Nous avons employé des doses de 50 mg/kg ou 100 mg/kg, toutes les 8 heures, avec pour certains rats des doses de charge soit initiales soit finales. La durée du protocole est courte : 32 heures.

RESULTATS :

Il est apparu de façon régulière :

- une acétonurie
- une perte de poids

ceci d'autant plus que la dose de toxique est élevée.

Il n'y a qu'une seule stéatose : le rat 9 I qui présente d'ailleurs l'hypoglycémie la plus marquée et la plus forte transaminémie du groupe, sans avoir de nécrose hépatique plus marquée que les autres rats à l'histologie.

CONCLUSIONS :

- Un protocole aussi court est probablement peu propice à l'apparition d'une stéatose. Aussi les modifications pour les séries suivantes ont-elles portées sur :

1) L'horaire :

- La série II aura un protocole plus long (90 h), mais des animaux seront sacrifiés à différents temps (10 h, 16 h...) pour suivre l'évolution de l'éventuelle stéatose. Les injections se feront toutes les 6 ou 12 heures.

2) La dose :

- Celle-ci sera augmentée à 75 mg/kg, 100 mg/kg et 300 mg/kg en raison des faibles résultats obtenus avec 50 mg/kg dans la série I.

1 - Protocole

Série II

0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66 72 78 84 90 heures

n° rat

75 mg/kg

2 . A

5 . A

1 . . A

4 +

3 +

6 A

100 mg/kg

9 A

7 +

8 +

300 mg/kg

10 . +

11 . +

12 . +

Série II

n° rat	Autopsie à	glyc	bil	SGOT	SGPT	Ac	Δ poids	p. foie/p.T
<u>75 mg</u>								
2	20 h	2,44				0	- 3,8 %	3,9
5	10 h	2,18	5	153	60	+	- 5,3 %	3,87
1	16 h	0,72	4	123	30	+	- 9,8 %	4,55
4	68 h						- 1 %	4,92
3	84 h						- 15 %	5,39
6		1,28	2	125	27		+ 4,3 %	3,32
<u>100 mg</u>								
9	48 h	3,32	4,5	78	21	+	- 6 %	4,11
7	84 h						- 11,4 %	4,96
8		1,50	2	48	14		- 12,4 %	4,79
<u>300 mg</u>								
10	3 h	0,25				+++	- 0,3 %	5,49
11		0,68				++	- 1,1 %	5,10
12		0,27				+++	- 1,4 %	5,22

foie				SN				alvéole pulm			
stéat	inflam	congest	nécrose	oédème	hipp	nécrose cervelet	cort	conges	emphy	atél	inflam
0	0	++	0								
20 %	0	+	0								
0	0	+	+								
50 %	0	++	0								
35 %	0	+++	+								
80 %	0	++	+								
0 %	0	+	0								
20 %	+	++	+								
0 %	0	+	0								
0 %	0	++++	+	++	0	0	0	++++	0	0	+
0 %	0	++++	0	++	0	0	0				
0 %	0	++++	0	++	0	0	0	++++	0	0	++

3 - Discussion

Série II

RESULTATS :

Les résultats ont été appréciés selon les doses d'A4P administré :

1) Les doses de 75 mg/kg ont entraîné

- une perte de poids
- une élévation des SGOT
- une stéatose à 68 h et 84 h (3 II, 4 II, 6 II) et un cas isolé à 10 h (5 II).

2) Les doses de 100 mg/kg ont entraîné

- une perte de poids
- un cas de stéatose (7 II)

3) Les doses de 300 mg/kg ont entraîné

- le décès dans les 3 heures des 3 sujets
- une hypoglycémie
- une acétonurie marquée
- le rapport poids foie/foie total est élevée, les animaux n'ayant pu avoir de ponction sanguine totale ce qui peut expliquer l'état congestif très important du foie et du poumon des 3 animaux.
- l'absence de stéatose
- la cause du décès semble pulmonaire : animaux cyanosés, poumons très congestifs présentant des images d'alvéolite hémorragique.

CONCLUSIONS :

- la stéatose est apparue tardivement et il apparaît nécessaire d'allonger encore la durée de l'expérimentation.

- La dose de 75 mg/kg paraît un bon chiffre puisque l'on observe 4 cas de stéatose sur 6 rats traités.

La série III est donc envisagée avec un protocole long (156 h) et des doses de 75 mg/kg toutes les 12 heures.

Les autopsies systématiques seront effectuées à 36 h, 48 h, 60 h, et 132 h pour suivre l'évolution de la stéatose.

Des animaux "survivants" recevront des doses de toxiques et auront un délai sans traitement plus ou moins long avant l'autopsie pour la recherche d'une éventuelle restitution ad integrum.

Enfin, un lot de témoins sera étudié.

- oOo -

1 - Protocole

[illegible]

Série III

n° rat	Autopsie à	glyc.	bil.	SGOT	SGPT	chol.	trigly.	lipide	Ac	Δ poids	p.foie/ p.tot.
1	36 h	1,90	6	1,73	44	0,56	0,52	0		- 4,5	4,83
2		1,40	3,5	92	34	0,74	1,43	3,25		- 10,3	3,67
3		1,68	3	85	40	0,62	1,25	2,80		+ 3,1	
11	48 h									- 1,58	5,20
17		1,50	3,5	91	21	0,30	0,40	0			3,88
7	60 h	2,42	1,5	95	q.i.	0,82	0,88	2,75	+	+ 0,3	5,18
8		1,94	2	98	32	0,30	0,64	2,0	0	0	5,01
9		2,16	2	68	15	0,56	0,70	2,60		- 6,7	6,43
13	132 h	1,74	1	61	29	0,43	1,36	2,20	0	+ 1,9	5,27
14		1,54	2	66	31	0,15	0,83	1,30	0	+ 4,1	6,62
15	156 h	1,72	1	61	26	0,38	1,16	2,45	0	+ 2,6	5,08
16		1,68	1	70	29	0,26	0,79	1,10	0	- 2,9	5,90
19	156 h tém.	2,04	0,5	56	29	0,54	0,77	2,45	0	+ 5,8	4,68
20		2,0	1	69	31	0,60	1,03	2,35	0	+ 6,2	5,50
21		1,96	1	54	27	0,43	1	2,25	0	+ 4,8	4,96
22		1,60	0,5	60	29	0,38	0,92	2,25	0	+ 3,9	5,24
4	470 h ↓ 36 h	1,84	1	79	28	0,72	0,76	3	0	- 3,1 %	4,66
5		2,05	1	63	34	0,86	0,74	2,95	0	- 7,7 %	4,78
6		2,02	1	74	35	0,86	0,60	3,25	0	- 1,1 %	4,63
10	↓ 60 h	1,96	1	85	25	0,80	0,73	3,05	0	- 8,1	4,69
12		1,96	1	81	32	0,58	0,43	2,85	0	- 3,9	4,37
18	↓ 156 h	2,45	1	72	41	0,66	0,50	2,45	0	+ 10,6	4,34

Foie

Cerveau

Alvéole pulm.

stéat	inflam	conges	nécrose	oedème	hipp	cervelet	cort	congest	emphy	atéél	inflan
0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	+	0
0	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	0
0	0	++	0	+	+	+	+	+	+	0	0
0	0	+++	+	+++	0	+	++	+++	+	+	0
4 %	+	+	0	++	+	++	+++	++	+	+	0
0	0	+	0								
0	0	+	0								
0	+	++	0								
0	+	++	0	+	0	+	+	0	0	0	+
0	+	++	0	++	+	+	0	0	0	0	+
0	0	++	0	+	+	++	+	+	0	+	0
0	0	++	0	+	+	+	0	+	0	+	0
0	0	++	0	+	0	+	+	0	0	+	+
0	0	+	0	++	+	+	+	+	0	0	0
0	0	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+
0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0
0	+	++	0								
0	0	++	0								
0	0	++	0								
0	+	++	0								
0	0	++	0								
0	0	+	0								

3 - Discussion

Série III

RESULTATS

Ils sont envisagés sous l'angle des variations biologiques et des modifications histologiques.

1) Les constatations biologiques

- Il n'y a pas de variations particulières pour glycémie, SGPT, cholestérol, lipides totaux et triglycérides dosés dans le sang, de même pour l'acétonurie.

- Les SGOT et la bilirubine sont augmentées dans les 36 premières heures, ce phénomène s'atténuant par la suite.

- La perte de poids est nette surtout au début mais constante pendant les 156 heures si l'on compare aux témoins.

2) Les constatations histologiques

- Absence totale de stéatose.

- Lésions d'alvéolite hémorragique au niveau pulmonaire des 2 animaux morts précocement (11 III et 17 III) avec une cyanose marquée. Ces deux animaux ont les signes de souffrance cérébrale (oédème et nécrose) les plus marqués de toute la série.

CONCLUSION :

Cette série est décevante puisqu'aucune stéatose n'est apparue. Pour la série IV le protocole reste le même : 75 mg/lg toutes les 12 heures mais la durée totale est augmentée à 216 heures.

Une étude biochimique du tissu hépatique précise les données histologiques et affine la mesure de la stéatose.

On dose l'acide lactique et le cortisol dans le sang. Un lot de témoins est étudiés pour déterminer les valeurs normales des différents paramètres.

1 - Protocole

Série IV

75 mg/kg

[illegible]

Série IV

n° rat	Autopsie à	glyc	bil	SGOT	SGPT	chol	trigly	lip.	lact	corti	eau % p.frais	lip. T /p.sec	chol T /p.sec	glyc. /p.sec	p.l /p.
5	6 h														
11	6 h														
7	18 h														
15	18 h														
3	28 h	0,56	2,5	185	41	0,83	0,32	2,25		28	71,28	253,5	39,6	61,6	105
4		0,55	4	153	36	0,36	0,61	1,75		30					
9		1,46	3,5	178	34	0,36	1,02	1,75		35	70,0	297,8	64,2	72,1	105
8	48 h	1,79	3	154	36	0,69	0,30	2,25		51	74,58	235,3			88
10	120 h	2,34	6	61	49	0,52	0,33	1,75		29	75,45	178	29,5	8,0	112
2	216 h	1,50	1	28	32	0,53	0,26	1,8	2611	42	76,37	158,1	35,3	25,7	90
6		1,74	1	88	39	0,53	0,30	2,2	2667	26					
12		1,70	1	84	27	0,58	0,26	2,4	1889	15					
14		1,74	1	94	27	0,42	0,26	1,95	1944	51					
16	216 h Tém.	1,44	1	79	31	0,50	0,32	2,6	3500	14	74,25	146,2	21,3	9,2	103
17		1,40	1	66	31	0,42	0,45	2,1	4056		78,57	160,6	22,6	13,8	119
18		1,64	2	108	36	0,64	0,50	3	3889	42	76,07	199,5	30,5	30,2	121
13	216 h	1,66	1,5	75	28	0,56	0,46	2,6	2111	37	75,54	141	22,0		
1		1,74	2	87	34	0,66	0,31	2,6	3111						

Apoids	p.foie /p.tot	Foie				Cerveau				Alvéole pulmonaire			
		stéat.	inflam.	cong	nécro.	oed.	hip.	cerv.	cort.	conges.	emphy.	atélec.	inflam.
- 1,7	7,62	3 %	0	++	+					+++	+	+	0
- 1,6	7,58	10 %	0	+++	0	+	0	+	+	+	0	+	0
- 12,2	5,50			+		+	+	+	+	+++	0	+	0
- 9,6	4,91	0	0	++	0	+	+	+	++	+++	0	+	0
- 11,3	4,13	50 %	0	0	++	0	0	+	+	+++	0	++	0
- 11,4	4,12	50 %	0	0	+	0	0	0	+	+++	0	++	0
- 14,0	3,83	60 %	+	0	0	0	0	+	+				
- 11,9	3,82	5 %	0	+	0								
- 2,7	5,39	20 %	+	+	0								
+ 6,16	6,11	50 %	0	+	0	+	0	0	+				
+ 3	5,57	0	+	+	+	0	0	0	+				
+ 9,5	3,81	0	0	+	0	+	0	++	++				
+ 5,6	5,13	0	0	+	+	+	+	+	+				
+ 14,0	4,85	1 %	0	+	0	0	0	0	+				
+ 17,7	5,53	0	0	+	0	0	0	0	+				
+ 16,0	4,82	0	0	+	0	0	0	0	+				
+ 6,4	4,82	0	0	+	0								
+ 3,14	5,16	0 %	+	+	+	0	0	0	+				

3 - Discussion

Série IV

RESULTATS :1) Les constatations biologiques :

- Il n'y a pas de variations particulières pour les SGPT, le cholestérol, les triglycérides, les lipides totaux, le cortisol (celui-ci varie beaucoup sans rapport avec les doses de toxique, peut-être selon le stress de l'anesthésie).
- La glycémie est faible chez 2 rats (3 IV et 4 IV) à 24 h. Les autres valeurs observées par la suite sont bien groupées.
- Les SGOT et la bilirubine sont augmentées dans les 48 premières heures.
- La lactacidémie semble plus faible chez les animaux traités de façon chronique à l'A4P que chez les témoins.
- L'acétonurie est notée pour 3 cas sur 4 dans les 48 premières heures.
- On note pour 3 IV, 4 IV, 8 IV, 9 IV et 10 IV une légère diminution du rapport eau/poids frais et une augmentation des lipides totaux et des triglycérides tissulaires.
- Le cholestérol et les phospholipides tissulaires ne sont pas sujets à des variations particulières .

2) Constatations pondérales :

- La perte de poids est nette surtout au début mais constante pendant toute l'évolution si l'on compare aux témoins.
- Le repport poids du foie/poids total est plus faible pour les rats traités autopsiés précocement (24 h, 48 h) que pour les autres.

3) Constatations histologiques :

- Il existe une stéatose hépatique pour 3 IV, 4 IV, 9 IV, 10 IV, 2 IV, avec une très bonne corrélation avec les données de biochimie tissulaire. On note une nécrose pour 3 IV et 4 IV, correspondant à des chiffres de SGOT élevés. L'inflammation et la congestion sont soit absentes, soit faibles. L'A4P produit une stéatose précoce (28 h) qui tend à disparaître par la suite puisqu'à 216 h, 1 animal sur 4 seulement la présente.

- L'étude du système nerveux central montre des résultats assez homogènes, les cerveaux étant normaux ou présentant parfois une dégénérescence neuronale et/ou un oedème sans corrélation avec les doses d'A4P.

CONCLUSION :

l'A4P a provoqué une stéatose d'intensité moyenne accompagnée de variations de paramètres biologiques.

La série V aura le même protocole et vérifiera les résultats de la série IV.

Il est prévu des autopsies à 24 et 48 heures pour mieux juger l'apparition de la stéatose.

1 - Protocole

Série V

75 mg/kg

0 12 24 36 48 72 96 204 216 heures



12 . +

11 . . A

15 . . A

18 . . A

5 A

7 A

9 A

2	.	.	.	.	.	} ----->	{	.	.	A
3	.	.	.	.	.			.	.	A
4	.	.	.	.	.			.	.	A
16	.	.	.	.	.			.	.	A
17	.	.	.	.	.			.	.	A

Sérum physiologique

1	.	.	.	.	.	} ----->	{	.	.	A
8	.	.	.	.	.			.	.	A
13	.	.	.	.	.			.	.	A
14	.	.	.	.	.			.	.	A

Série V

n° rat	Autopsie	glyc.	bil.	SGOT	SGPT	chol.	trigly.	lipide	lacta.	corti.	eau % p.frais	lip. T /p.sec
12	1 h	≥ 5	5	98	28	0,54	1,27	3,6	5500		74,59	253,5
11	24 h	1,04	3	113	18	0,40	0,24	2	2500	7	74,29	253,5
15		1,63	1	78	25	0,44	0,38	2,65	2800		75,65	187,5
18		2,37	2	110	20	0,36	0,39	2,45	2500		77,42	245,2
5	48 h	1,94	2	90	20	0,34	0,10	3,6	3500		75,82	229,0
7		1,75	1	65	27	0,48	0,53	2,25	2200		73,83	199,7
9		1,19	1	179	48	0,56	0,32	2,80	2700		76,47	191,3
2	216 h	1,74	1	76	43	0,50	0,18	2,55	2050	36	75,20	146,5
3		1,28	1	69	48	0,50	0,37	2,65	3180	48	76,34	146,5
4		1,45	1	73	41	0,50	0,64	3	1420	31	75,50	133,4
16		1,05	2	82	37	0,46	0,74	2,5	3750	19	76,56	151,5
17		1,28	2	77	39	0,50	0,64	2,4	4320	36	75,98	139,8
1	216 h tem.	1,81	1	76	42	0,50	0,70	3,3	6800	33	76,89	142,3
8		1,56	1	65	32	0,46	0,48	2,7	1875	49	77,93	146,1
13		1,56	1	69	30	0,50	0,58	2,65	2100	28	76,72	154,2
14		1,34	2	87	32	0,60	0,51	3,35	3470	34	75,22	151,1

chol.T /p.sec	glyc. /p.sec	p.lip. /p.sec	Ac	Δ poids	p.foie /p.tot	Foie				Cerveau			
						stéat	inflam	congest	nécro	oédè	hip	cerv	cort.
39,0	68,7		+	0	5,57	2 %	+	++	0	0	+	+	+
39,0	68,7	105,8	++	- 9,2	3,34	45 %	0	+	0	0	0	+	+
		102,4	+	- 3	5,18	5 %	+	+	0	0	+	0	+
32,9	46,4	127,7	+	- 8,7	4,39	30 %	+	+	+	0	+	++	+
		98,0	++	- 12,4	4,64	20 %	+	+	0	0	0	+	+
		93,0	0	- 3,8	5,03	20 %	0	++	0	+	+	0	+
		81,0	+	- 10,3	4,21	5 %	0	0	0	0	0	0	+
34,7	10,1	105,8	0	+ 15 %	4,8 %	0	+	+	+	0	0	0	+
18,3	9,4	103,5	0	+15,9%	4,96%	0	0	++	0	0	0	0	+
17,2	12,1	100,4	0	+12,6	5,98	0	0	++	0	0	0	+	+
19,2	8,5	112,2	0	+ 8,2	5,59	1 %	0	+	0	0	+	+	+
34,1	7,6	109,0	0	+ 4,1	5,78	0	0	++	0	0	0	+	+
21,9	9,9	106,2	0	+ 9,9	5,18	2 %	0	+	0	0	0	0	+
23,2	8,3	109,6	0	+ 7,2	5,67	0	+	+	+	0	0	0	+
18,3	12,0	103,5		+ 9,1	4,55	2 %	+	0	0	0	+	+	+
20,0	9,7	119,2	0	+ 9,9	4,48	1 %	0	++	+	0	+	0	+

3 - Discussion

Série V

RESULTATS :1) Constatations biologiques :

- Il n'y a pas de variations particulières pour la glycémie (à part 12 V, mort très précocement, avec une glycémie supérieure à 5 g/l), les SGPT, le cholestérol, les triglycérides, les lipides totaux, le cortisol.
- Les SGOT et la bilirubine sont augmentées dans les 48 premières heures.
- La lactacidémie n'a pas de variation particulière, à part pour 12 V où elle est très élevée (mort en cyanose, rôle d'une acidose pulmonaire ?).
- L'acétonurie est marquée dans les 48 premières heures.
- On note pour 11 V, 15 V, 18 V, 5 V, 7 V, 9 V (animaux des 48 premières heures) une augmentation nette des lipides totaux, du cholestérol et des glycérides tissulaires par rapport aux autres animaux.
- Le rapport eau/poids frais, le taux de phospholipides tissulaires ne varient pas de façon significative.

2) Constatations pondérales :

- La perte de poids est nette dans les 48 premières heures. A 216 h, on constate que les rats traités à l'A4P ont pris plus de poids que les rats témoins.
- Le rapport poids du foie/poids total apparait un peu plus élevé pour les rats traités de façon chronique que pour les témoins.

3) Constatations histologiques :

- On note une stéatose hépatique dans les 48 premières heures pour 11 V, 15 V, 18 V, 5 V, 7 V, 9 V. Cette stéatose est plus modeste que celle observée dans la série IV. Comme celles des autres séries, elle est micro vésiculaire et de disposition à prédominante péri-lobulaire. La corrélation avec les données de biochimie tissulaire est bonne. L'absence de stéatose pour 12 V ne surprend pas ; ce rat étant mort dans l'heure qui suivit la 1ère injection. Il existe sur presque toutes les lames un certain degré de congestion et on note quelques signes de nécrose pour 3 rats, sans corrélation avec les doses d'A4P.

- L'étude des différentes coupes de système nerveux central n'a montré qu'une seule fois de l'oédème (7 V) ; par contre une dégénérescence neuronale très modérée de la 3e couche corticale et/ou du cervelet et/ou de l'hippocampe est notée sur chaque lame, perdant ainsi toute valeur significative quant au rôle de l'A4P.

CONCLUSIONS :

Cette série confirme les principaux résultats de la série IV.

L'A4P provoque une stéatose précoce (48 h), d'intensité modérée ($\approx 30 \%$), et réversible puisque disparaissant chez les animaux traités pendant 216 h.

Cette stéatose s'accompagne d'augmentation des SGOT et de la bilirubine.

- oOo -

REMARQUES GENERALES SUR L'EXPERIMENTATION ET ETUDE GENERALE DES RESULTATS

Avant de discuter des résultats globaux de ce travail, deux points sont à préciser :

- l'absence de stéatose dans la série III
- la toxicité pulmonaire de l'A4P.

Absence de stéatose dans la série III : vérification des solutions d'A4P

Ceci nous a conduit à vérifier les solutions d'A4P utilisées. On sait que la double liaison carbone-carbone est indispensable à l'activité biologique et l'on pouvait craindre qu'il n'y ait eu oxydation et ouverture de cette liaison au contact de l'air.

Toutes les solutions précédemment préparées ont été analysées comparativement à des solutions extemporanées. Nous avons pratiqué une mesure du pH, et une mesure d'indice d'iode (méthode permettant de juger la richesse d'une solution en double liaison). Pour cette mesure, on réalise dans un premier temps un mélange de :

- 0,5 ml de solution A4P
- 7 ml de bromure d'iode à 2,22 %

que l'on fait reposer une heure à l'obscurité. Ensuite on rajoute 2 ml de chloroforme et on mesure le volume de thiosulfate de sodium ($S_2O_3Na_2$) 0,1 N nécessaire pour décolorer le mélange obtenu qui doit virer du violet à l'incolore. Plus la solution est riche en double liaison, moins il faut de thiosulfate.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Solution ayant été utilisé pour la série	datant, le jour de l'examen, de	pH	Volume de thiosulfate
I	11 mois	7,11	9,6 ml
II et III	7 mois	7,19	9,2 ml
IV	11 jours	7,36	8,8 ml
	extemporané	7,43	8,8 ml

Ainsi, en l'espace de 11 mois, les solutions d'A4P se sont légèrement acidifiées et ont perdu moins de 10 % de leurs doubles liaisons.

Ces différences minimales ne semblent pas pouvoir expliquer l'absence de stéatose dans la série III, d'autant plus que la solution n'avait que 2 mois lors de son emploi. Peut-on évoquer un déplacement de la double liaison, avec perte de l'activité biologique ? Une analyse structurale de la molécule aurait été nécessaire.

Quoiqu'il en soit, les préparations des séries IV et V furent effectuées la veille du début des injections et conditionnées en "mini-vial" étanche sous atmosphère d'azote pour éviter toute réaction chimique.

Il n'est apparu aucun autre facteur (animaux, régime, matériel employé...) pouvant expliquer l'échec de la série III.

Toxicité pulmonaire de l'A4P

Le nombre important de décès survenant dans les 48 premières heures dans un tableau de cyanose très marquée du museau et des ongles nous a poussé à l'étude histologique des poumons de ces animaux (10 II, 11 II, 12 II décédés une heure après l'injection de 300 mg/kg ; 11 III et 17 III décédés à 48 heures, après 4 injections de 75 mg/kg ; 5 IV, 11 IV, 7 IV, 15 IV, 3 IV, 4 IV, 9 IV, 8 IV, tous décédés dans les 48 premières heures).

Nous avons noté de façon régulière une congestion souvent massive accompagnée de zones d'atélectasie et parfois d'emphysème, donnant à la lame un aspect d'alvéolite hémorragique "grippale".

Cet aspect n'a jamais été retrouvé chez les témoins (19, 20, 21, 22 de la série III).

Le fait que les animaux présentant l'oédème cérébral le plus marqué (10, 11, 12 II et 11, 17 III) fassent partie de ces décès précoces nous pousse à rattacher l'existence de l'oedème cérébral plus à une hypoxie (voir anoxie) de cause pulmonaire qu'à l'action directe de l'A4P sur le système nerveux.

Enfin cette toxicité pulmonaire a été observée de façon irrégulière selon les séries (8 décès sur 15 animaux dans la série IV, 1 seul décès sur 12 animaux dans la série V). Nous n'avons pas trouvé de cause spéciale à cet état de fait.

Des documents précis manquent pour comparer les lésions pulmonaires causées par l'A4P et les lésions observées dans la maladie des vomissements de la Jamaïque.

Par contre il faut remarquer la similitude entre les poumons des rats décédés précocement et les lésions pulmonaires du syndrome de Reye : oédème, aspect de pneumonie interstitielle parfois associée à des hémorragies (13).

L'A4P peut reproduire les lésions pulmonaires et hépatiques du Ed de Reye, mais non de façon simultanée.

Etude générale des résultats

Nous présentons les résultats groupés des séries III, IV et V, les animaux ayant tous reçu des doses de 75 mg/kg, toutes les 12 heures (pour les témoins, volume égal de sérum physiologique).

Les animaux sont groupés en 3 lots :

- un lot de "témoins" comprenant 7 animaux :

1, 8, 13, 14 de la série V

16, 17, 18 de la série IV

tous ont été sacrifiés à 216 heures

- un lot de 9 animaux traités avec l'A4P de façon chronique :

2, 3, 4, 16, 17 de la série V

2, 6, 12, 14 de la série IV

tous ont été sacrifiés à 216 heures

- un lot de 15 animaux traités avec l'A4P de façon aigüe

11, 15, 18, 5, 7, 9 de la série V

3, 4, 9, 8 de la série IV

1, 2, 3, 11, 17 de la série III

tous ont été sacrifiés entre 24 et 48 heures.

Le tableau suivant donne pour chaque lot la moyenne suivie de l'écart-type.

La comparaison entre les différents lots est effectuée selon le test de Student.

Pour $P > 0,02$ les différences sont non significatives (N.S.)

$0,001 < P < 0,02$ " " significatives (S.)

$P < 0,001$ " " hautement significatives (H.S.)

Les unités sont les mêmes que celles utilisées pour les tableaux de chaque série (cf p.

MOYENNES ET ECARTS TYPES DES DIFFERENTS
PARAMETRES DES GROUPES "TEMOINS", "AIGUS", "CHRONIQUES"

	TEMOINS		AIGUS		CHRONIQUES		COMPARAI- SON A/T	CHR./T
SGOT	78,57 ± 5,72		124,71 ± 11,61		74,56 ± 6,36		↗ S	NS
SGPT	33,43	1,60	31,71	2,64	37	2,37	NS	NS
bilirubine	1,29	0,18	2,79	0,37	1,22	0,15	↗ S	NS
glycémie	1,54	0,06	1,48	0,14	1,50	0,09	NS	NS
cholest.	0,50	0,04	0,50	0,05	0,50	0,02	NS	NS
triglyc.	0,51	0,04	0,56	0,10	0,41	0,07	NS	NS
lip. T.	2,81	0,17	2,13	0,28	2,38	0,12	NS	NS
cortisol.	33,33	4,91	36,00	5,21	33,78	4,11	NS	NS
lactacid.	3670	611	2700	180	2648	317	NS	NS
Δ poids	+ 11,97	1,48	- 8,82	1,36	+ 8,90	1,57	↘ HS	NS
p.foie/ p.total	4,87	0,14	4,34	0,14	5,30	0,24	↘ S	NS
p. eau/ p. frais	76,52	0,56	74,40	0,80	75,99	0,22	NS	NS
lip.T/ p. sec	157,14	7,41	232,51	11,85	145,97	3,53	↗ HS	NS
chol T / p. sec	22,54	1,46	43,93	6,93	26,47	3,69	↗ S	NS
glycéride / p. sec	13,30	2,90	62,28	5,64	12,23	2,76	↗ HS	NS
phospholip. / p. sec	11,77	3,04	100,81	4,40	103,57	3,11	NS	NS

RESULTATS GENERAUX

A) Etudiés avec des protocoles courts (24-48 heures)

L'A4P provoque :

- Une élévation significative des SGOT et de la bilirubine sans signe histologique de nécrose hépatique marquée.
- Une stéatose hépatique d'intensité modérée (moyenne série III et IV : 30 %), contrôlée par l'augmentation significative des lipides totaux, cholestérol et glycérides dans les tissus hépatiques. Cette stéatose est micro-vésiculaire à début péri-lobulaire, sans signe d'inflammation ou de nécrose.
- Une perte de poids très significative et une diminution du rapport poids du foie/poids total (stéatose + atrophie hépatique).
- Une acétonurie faible.

L'A4P ne provoque pas de variations significatives de :

- SGPT, glycémie.
- Cholestérol, triglycéride, lipides totaux, cortisol et acide lactique dosés dans le sang.
- Rapport poids eau/poids frais, phospholipides/poids sec tissulaire hépatique.
- Oédème ou dégénérescence neuronale du système nerveux central.

B) Etudiée avec des protocoles longs (216 heures)

L'A4P ne provoque aucune variation significative des différents paramètres étudiés.

- oOo -

L'A4P a donc essentiellement une action stéatogène sur le foie. Cette action est assez pure de nécrose et d'inflammation et cette action paraît réversible alors même que les animaux continuent à être intoxiqués.

Il serait intéressant de déterminer le mécanisme de cette réversibilité : détoxification progressive de l'A4P dans un organisme "mithridatisé", ouverture de nouvelle voie métabolique à la suite du blocage de la B oxydation ?

COMPARAISON AVEC LES AUTRES TRAVAUX SUR L'A4P

Dans les travaux de GLASGOW et CHASE (26), les rats à jeûn (même race, même poids, même sexe que ceux de nos travaux) ont reçu 10 doses intra-péritonéales de 50 mg/kg, toutes les 4 heures, et une dose finale de 200 mg/kg, combinant ainsi une intoxication chronique et aiguë (total : 44 heures).

Il a été observé pour les rats intoxiqués :

- des SGOT doubles de celles des témoins (moyenne de 136 ± 22 au lieu de 66 ± 7 ui/l)
- une augmentation du poids du foie par rapport aux témoins
- une perte de poids d'environ 17 %, de 14 % pour les témoins
- une stéatose hépatique à petites vacuoles, non chiffrée
- une diminution significative des acides gras libres
- une ammoniémie double de celle des témoins.

Dans les travaux de COLON et PARDO (19) les animaux (même race) reçoivent des doses d'A4P de 100 mg/kg/j. Une suspension de virus "Mengo Strain" est inoculée par voie intra péritonéale à certains animaux.

Il a été observé pour les rats intoxiqués :

- une stéatose hépatique microvésiculaire
- une chute nette du glycogène hépatique
- l'absence d'oédème et de nécrose du système nerveux central
- une augmentation des triglycérides tissulaires hépatiques
- une hyperglycémie initiale, suivie d'un état modéré d'hypoglycémie.

Ces phénomènes sont accentués si les rats sont soumis à la diète ou s'ils reçoivent l'A4P en association avec la suspension virale.

Les protocoles différents, doivent rendre toute comparaison prudente, mais on retrouve de manière générale les mêmes variations que dans nos séries (SGOT, stéatose, perte de poids). Une discordance est à noter cependant au sujet du rapport poids du foie/poids total entre les travaux de GLASGOW et les nôtres.

- oOo -

COMPARAISON AVEC UN MODELE DE STEATO NECROSE HEPATIQUE (5)

Ce modèle est réalisé chez des rats Wistas par une injection unique de tétrachlorure de carbone à dose de 0,10 mg/100 g avec autopsie plus ou moins précoce.

Nous comparons l'augmentation des SGOT et des lipides totaux tissulaires hépatiques, par rapport aux témoins, des animaux autopsiés entre 24 et 48 heures pour l'A4P, à 36 heures pour le C Cl₄

	SGOT	Lipides hépatiques
C Cl ₄	+ 6000 %	+ 193 %
A 4 P	+ 59 %	+ 48 %

Si la stéatose provoquée par l'A4P est plus modeste que celle entraînée par le C Cl₄, elle est par contre pratiquement exempte de lyse cellulaire comme en témoigne la très faible augmentation des SGOT.

Ceci fait ressortir la faiblesse de la nécrose produite par l'A4P et le caractère stéatogène presque pur de ce toxique.

COMPARAISON DU MODELE EXPERIMENTAL ET DU ED DE REYE

Nous retenons comme modèle d'expérimentation le lot "aigus" c'est-à-dire les rats ayant reçu des injections d'A4P à dose de 75 mg/kg, toutes les 6 heures et ayant été autopsiés entre 24 et 48 heures. (cf. p. 39)

Le tableau suivant compare les différents paramètres étudiés :

BIOLOGIE :

	Ed de Reye	A4P
Glycémie	↘	→
SGOT	↗	↗
SGPT	↗	→
Bilirubine	→	↗
Cholestérol	↘	→
Triglycérides	↘	→
Lipides totaux	↘	→
Cortisol	↗	→
Lactacidémie	↗	→
Variation de poids		↘
P. foie/p. total	↗	↘
Lip. tot./p. sec	↗	↗
Glycéride/p. sec	↗	↗
Phospholipides/p. sec	↘	→

HISTOLOGIE :

		Ed de Reye	A4P
<u>Foie</u>	Stéatose micro-vésiculaire	100 %	30 %
	Inflammation	0	0
	Nécrose	0	0
	Congestion	0	0
	Restitutio ad integrum	+	+
Système nerveux	Oedème	+	0
	Nécrose	+	0

On retrouve donc en commun la stéatose et sa traduction biochimique. A part son intensité qui est moindre, la stéatose provoquée par l'A4P est superposable à celle du Ed de Reye : microvésicule, absence de nécrose ou d'inflammations marquées, réversibilité.

Les autres paramètres étudiés, à part l'augmentation légère des SGOT et de la bilirubine, ne correspondent pas à ceux du Ed de Reye : en particulier il n'a été trouvé ni de signes histologiques d'encéphalopathie métabolique, ni de variations du "bilan lipidique" sanguin.

CONCLUSION

Dans ces conditions, il apparait que le modèle proposé ne réunit pas assez de concordances avec le Ed de Reye pour être valablement exploité en ce sens.

La stéatose hépatique provoquée par l'A4P est cependant remarquable par sa pureté et il serait logique que ce modèle expérimental soit utilisé pour étudier les mécanismes de production de la stéatose hépatique, et éventuellement pour tester des médicaments "hépatoprotecteurs".

C O N C L U S I O N S

- 1) Le syndrome de Reye, encéphalopathie avec dégénérescence graisseuse des viscères, et la maladie des vomissements de la Jamaïque présentent de nombreuses analogies cliniques et anatomo-pathologiques. Ceci peut faire supposer une physio-pathologie commune.
- 2) La maladie des vomissements de la Jamaïque est causée par un toxique : l'hypoglycine dont l'acide 4 penténoïque reproduit les effets biologiques.
- 3) Ce travail tente de reproduire le syndrome de Reye par injection à des rats d'acide 4 penténoïque (75 mg/kg, toutes les 6 heures, pendant 12 à 216 h).
- 4) L'acide 4 penténoïque entraîne en 24-48 heures une stéatose hépatique d'intensité modérée, pratiquement sans nécrose, et réversible. Il n'a déclenché aucune lésion encéphalique significative.
- 5) Le modèle proposé ne reproduit donc que quelques éléments du syndrome de Reye et ne semble pas exploitable pour l'étude de celui-ci. Il paraît par contre intéressant pour étudier la gènèse de la stéatose hépatique et éventuellement tester les produits "hépatoprotecteurs".

- oOo -

Vu, le Directeur de l'U.E.R. Sud-Ouest

Professeur J. NORMAND

Le Président de la thèse

Professeur M. TOMMASI

Vu et Permis d'Imprimer

LYON, le 26 janvier 1978

*Le Président de l'Université Claude Bernard
Président du Comité de Coordination des
Etudes Médicales*

Professeur D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

L'ouvrage "Reye's Syndrome" (22) donne une abondante bibliographie sur ce sujet (464 références).

1 - ALBA G.

Défaillance hépatique aigüe de l'enfant avec stéatose viscérale et encéphalopathie.

Thèse Med. Nancy, 1973, n° 30.

3 - AOKI Y., LOMBROSO C.T.

Prognostic value of E.E. graphy in Reye's syndrome.

Neurology, 1973, 23, p. 333-343.

4 - BECROFT D.M.O., WEBSTER D.R.

Aflatoxins and Reye's syndrome.

Brit. Med. J. 1972, 4, p. 117.

5 - BEL A., LEVRAT R., NESMOZ J., LEMONTEY A., DELORME G.

Evolution comparée de l'ornithine carbamyl transférase (O.C.T.) et des transaminases sériques après intoxication aigüe au tétrachlorure de carbone chez le rat.

R.I.H., 1968, XVIII, p. 651-661.

6 - BERNARDEAU J.

Ed de Reye : encéphalopathie aigüe de l'enfant avec dégénérescence graisseuse des viscères. 4 observations personnelles.

Thèse méd. Lyon, 1972, n° 12.

7 - BOURGEOIS C., OLSON L., COMER, EVANS M., KESCHAMRAS N., COTTON R., GROSSMAN R., SMITH T.

Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera : clinico pathological analysis of 40 cases.

Amer. J. Clin. Path., 1971, 56, p. 558-571.

- 8 - BOVE E., ADAMS A.J., PARTIN M.D., PARTIN J.S., HUG G., SCHUBERT W.K.
The hepatic lesion in Reye's Ed.
Gastro-enterology, 311-242 absent., 1975, 69, p. 685-697.
- 9 - BRENDEN K., CORREDOR C., BRESSLER R.
The effect of 4 pentenoic acid on fatty acid oxydation.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 1969, 34, p. 340.
- 10 - BRESSLER R., CORREDOR C., BRENDEN K.
Hypoglycin and hypoglycin like compounds.
Parmaol. Rev., 1969, 22, p. 105-130.
- 11 - BROOKS S.E.H. and AUDRETSCH J.J.
Studies on hypoglycin toxicity in rats.
Americ. J. Pathol., 1970, 59, p. 161-179.
- 12 - BROWN R.E., MADGE G.E.
Fatty acids and mitochondrial injury in Reye's Ed.
New Engl. J. Med., 1972, 286, p. 787-788.
- 13 - BROWN R.E., MADGE G.E.
Pulmonary findings in Reye's syndrome.
Arch. Pathol., 1971, 92, p. 475-479.
- 14 - BROWN R.E., MADGE G.E.
Cardiac findings in Reye's Ed. Clinico pathologic features.
Arch. Path., 1971, 92, p. 244-247.
- 15 - BRUNBERG J.A., BELL W.E.
Reye's Ed. An association with type I vaccine like poliovirus.
Arch. Neurol. (Chir), 1974, 30, p. 304-306.

- 16 - CADUDAL J.L., NICOLAS F., MAINARD R., BARON D., LENNE Y., MENAGER Ch.,
LEBODIC L., GRISLAIN I.R.
Encéphalopathie aigüe de l'enfant avec stéatose viscérale Ed de Reye,
à propos de 3 observations.
Ann. Pédiatr. 1973, 20, p. 117-126.
- 17 - CHANG L.W., GILBERT E.F., TANNER W., MOFFAT H.L.
Reye Ed. Light and electron microscopic studies.
Arch. Path., 1973, 96, p. 127-132.
- 18 - CHAVES J., CARBALLO E., GOMEZ M.R., SHARBROUGH F.W.
Encephalopathy and fatty infiltration of the viscera Reye. Jhonson syndrome.
A 17 years experience.
Mayo clinic Proc., 1975, 50, p. 209-215.
- 19 - COLON A.R., PARDO V., SANDBERG D.H.
Experimental Reye's syndrome induced by viral potentiation of chemical
toxin.
Dans (22), p. 199-214.
- 20 - CULLITY E.J., KAKULAS B.A.
Encephalopathy and fatty degeneration of the viscere an evaluation.
Brain, 1970, 93, p. 77-88.
- 21 - DAVID L.
Encéphalopathie aigüe avec dégénérescence graisseuse des viscères.
Syndrome de Reye.
Pédiatrie, 1970, 25-4, p. 467-470.
- 22 - DENNIS POLLACK S., MOSER S.A., REDSHAW P.L.
Reye's syndrome.
GRUNE and STRATON, INC, 111 fifth Avenue New York 10 003, 1975.
- 23 - DIEBLER Cl.
Contribution à l'étude critique du Ed de Reye.
Thèse Med. Paris, 1975, n° 19.

- 24 - EVANS H., BOURGEOIS C.H., COMER D.S., KESCHAMRAS N.
Brain lesion in Reye's Ed.
Arch. Path., 1970, 90, p. 543-546.
- 25 - FRANCIOSI R.A.
Reye's syndrome in twins. Letter to the editor.
J. Pediat., 1971, 78, p. 549.
- 26 - GLASCOW A.M., CHASE H.P.
Production of the features of Reye's Ed in rats with 4 - pentenoic acid.
Pediat. Res., 1975, 9-3, p. 133-138.
- 27 - GLICK T., DITCHEK N., SALITSKY S., FREIMUTH E., MAWR B.
Acute encephalopathy and Hepatic dysfunction associated with chickenpox in siblings.
Ameri. J. Dis. Children, 1970, 119, p. 68-71.
- 28 - GLICK T., LIKOSKY W., LEVITT L.
Reye's Ed. An épidemiologic approach.
Pediatrics, 1970, 46, p. 371-377.
- 29 - GOSSEYE S., MALDAGUE P., MEYER R.
Ed de Reye : description de 2 cas et revue de la littérature.
Arch. Franc. du Pédiat., 1973, 30, p. 381-399.
- 30 - HASSAL C.H., REYLE G.
Hypoglycin A and B, two Biologically active Polypeptides from Blighia Sapida.
Biochem. J., 1955, 60, p. 334-339.
- 31 - HILL K.R.
The vomiting sickness of Jamaica. A Review.
W.I. med. J., 1952, I, p. 243-263.

- 32 - HILL K., BRAS G., CLEARKIN K.

Acute toxic hypoglycemia occurring in the vomiting sickness of Jamaica.
W.I. Med. J., 1955, 4, p. 91-104.

- 33 - HOCHBERG F.M., NELSON K., JANZEN W.

Influenza type B related encephalopathy the 1971 out break of Reye's Ed
in Chicago.
JAMA, 1975, 231, p. 817-821.

- 34 - HOLLAND P.C., SENIOR A.E., SHERRAT H.S.A.

Biochemical effects of the hypoglycin compound pent 4 enoïc acid and
related new. Hypoglycaemic fatty acids.
Biochem. J., 1973, 173, p. 136-157.

- 35 - JAOUEN M., MARTY-DOUBLE CH., PAGES A.

Ed de Puttman-Reye et Ekiri.
Etude neuro-anatomique et essai nosologique.
Annale Anat. Path., 1975, 20, p. 453-478.

- 36 - KANG E.S., GERALD R.S.

Hyperammonemia and Reye's Ed.
New England J. Med., 1972, 286, p. 1216-1217.

- 36 bis - LORAS B., ROUX M., PHILIPPE M.M.

Dosage du cortisol plasmatique et urinaire par liaison compétitive aux
protéines.
Ann. Endocr. 1970, 31, p. 383.

- 37 - NICHOLLS S., GILL D., CRASKE J.

Reye Ed associate with acute tubular necrosis.
Arch. Disease childh. 1975, 50-12, p. 960-962.

- 38 - MAMELLE J.C.

Le Ed de Reye.
Rapport du 24ème Congrès association pédiatres langue franç.
Paris, Juillet 1975.

39 - MENGET A.

Encéphalopathie aigüe de l'enfant avec stéatose viscérale ou Ed de Reye.
Etude de 2 familles.
Thèse Med. Besançon, 1974, n° 234.

40 - MOGILNER B., FREEMAN J., BLASMAR Y., PINCUS F.

Reye's Ed in 3 Israeli children. Possible relationship to warfarin toxicity.
Israel, J. Of. Med. Science, 1974, 10, p. 1117.

41 - MORALES R., BOURGEOIS C., CHULACHARTI H.

Pathology of the heart in Reye's Ed.
Ameri. J. Cardiol., 1971, 27, p. 314-317.

42 - MORENS D.M., HAMMAR S.L., HEICHER D.A.

Idiopathic acute pancreatitis in children. Association with a clinical picture resembling Reye Ed.
Amer. J. Dis. Child., 1974, 128, p. 401-404.

43 - NEIMANN N., VIDAILHET M., GOSSEYE, MEYER, BAROIS, GROSBUIS.

Ed de Reye étude anatomo clinique, aspect thérapeutique. 1 cas.
Communication, Journée de Réanimation, Nancy, Février 1976.

44 - OLSON L.C., BOURGEOIS C.M., COTTON R.B., HARIKUL S., GROSSMAN R.A., SMITH T.J.

Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera in Northeastern Thailand. Clinical Ed and epidemiology.
Pediatrics, 1971, 47, p. 707-716.

45 - OLSON L.C., BOURGEOIS C.H., KESCHAMRAS N., HARIKUL S., SANYAKORN C.K., GROSSMAN R.A., SMITH T.J.

Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera in Thai children.
Amer. J. Disease of child., 1970, 120, p. 1-2.

46 - PAGIS de MICCO, CHAPOY, LEBREUIL.

Ed de Reye étude anatomo-clinique de 2 cas.
Sem. Hop. Paris, 1975, 51-13, p. 891-899.

47 - PARTIN J.C.

Brain ultrastructure in Reye's Ed.

J. Of. Neuropathology and experimental neurology, 1975, 34-5, p. 425-444.

48 - PARTIN J.C., SCHUBERT W.K., PARTIN J.S.

Mitochondrial ultrastructure in Reye's Ed.

New England J. Med., 1971, 285, p. 1339-1343.

49 - POWELL H.C., ROSENBERG R.N., Mc KELLAR B.

Reye's Ed. Isolation of Para influenzae virus.

Arch. Neuro., 1973, 29, p. 135-139.

50 - PROSS D.C., BRADFORD W.D., KRUEGER R.P.

Reye's Ed and salicylate intoxication.

Pediatrics, 1970, 46, p. 976-978.

51 - RAHAL J.J., HENLE G.

Infections mononucleosis and Reye's Ed. a fatal case with studies for Epstein Barr virus.

Pediatrics, 1970, 46, p. 776-780.

52 - DE RENZO E.C., Mc KERNS K.W., BIRD M.H., CEKLENIAC W.P., COULOMB B., KALEITA E.

Some biochemical effects of hypoglycin.

Biochem. Pharmacol., 1958, 777, 314-570, p. 236-237.

53 - REYE R.D.K., MORGAN G., BARAL J.

Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera. A disease entity in childhood.

Lancet, 1963, 2, p. 749-752.

54 - REYNOLDS D., RILEY H., LAFON D.

An outbreak of Reye's Ed associated with influenza B virus.

J. Pediat., 1972, 80, p. 429-432.

- 55 - ROE C.R., SCHONBERGER L.B., GELBACH S.H., WIES L.A., SIDBURY J.B.
 Altérations enzymatiques dans le Ed de Reye : valeurs pronostiques.
 Pediatrics, 1975, 55-1, p. 119-126.
- 56 - ROCK R.C., DRESKIN R., KICKLER T., WIMSATT T.
 Creatine kinase isoenzymes in serum of patients with Reye's Ed.
 Clin. Chim. Acta, Pays-Bas, 1975, 62-1, p. 159-162.
- 57 - RUBEN F.L., MICHAELS R.H.
 Reye syndrome with associated influenza A et B infection.
 JAMA, 1975, 234, p. 410-412.
- 58 - ROSENFELD R.G., LIEBMABE M.I.
 Acute encephalopathy in siblings. Reye syndrome vs salicylate intoxication.
 Amer. J. Dis. Child., 1976, 130, 3, p. 295-297.
- 59 - SCOTT H.H.
 On the vomiting sickness of Jamaica.
 Ann. Trop. Med. Parasitol., 1916, 10, p. 1.
- 60 - SCHOTT B., TOMMASI M., TRILLET, LAURENT B.
 Bases neuro anatomiques et neurophysiologiques, Principales corrélations cliniques et électro encéphalographiques des comas métaboliques.
 Rev. du Prat., 1977, 27, p. 1159-1166.
- 61 - SCHWARTZ A.
 The coagulation defect in Reye's Ed.
 J. Pediat., 1971, 78, p. 325-328.
- 62 - SENIOR A.E., SHERRAT H.S.A.
 Biochemical effects of the hypoglycemic Compound Pent 4 enoïc Acid and related non. hypoglycaemic fatty Acids.
 Biochem. J., 1968, 110, p. 499-521.

63 - SHERRATT M.S.A.

Hypoglycin and related hypoglycaemic compound.

Brit. Med. Bull., 1969, 25, p. 250-255.

64 - SHIH V.E., GLICK T.H., BERCU B.R.

Lysine metabolism in Reye's Ed.

Lancet, 1974, 2, p. 163-164.

65 - SVOBODA D.J., REDDY J.K.

Pathology of the liver in Reye's Ed.

Lab. Invest. (U.S.A.), 1975, 32, p. 571-579.

66 - TANAKA K., KEAN E.A., JOHNSON B.

Jamaican vomiting sickness. Biochemical investigation of two cases.

N. Engl. J. Med. Lyon 136-219, 1976, 295, p. 461-467.

67 - THALER M.M., BRAUN F.W., APPLEBAUM M.N.

Reye's Ed in twin.

J. Pediatr., 1970, 77, p. 638-644.

68 - TRAUNE D.A., NYHAN W.L., SWEETMAN L.

Jamaican vomiting sickness and Reye's syndrome (lettre).

N. Engl. J. Med. 1976, 295, p. 1481-1482.

69 - TUREL A.P., LEVINKSON M.W., IRAJ DERAKHSHAN, YEZID GUTIERREZ

Reye Ed and cerebellar intra cytoplasmic inclusion bodies.

Arch. Neurol., 1975, 32, p. 624-628.

